

研究事業成果報告書

1. 緒論

先進国中で例を見ないほど急速に高齢化社会を迎えている我国では、認知症、特に増加の著しいアルツハイマー病（AD）型認知症が、その医療・介護に関わる社会経済的負担の大きさから見ても喫緊の課題となっている。しかしながら、短期間のうちに、この課題解決に有用な薬剤等の開発普及を望むことは困難であり、さらに AD 型認知症の前駆的病態である軽度認知機能障害（MCI）においては、我国では法律的にも疾患と見なされていない。

現在までに、AD型認知症の血液中病態バイオマーカー（CPB-BP2）が見出されており、MCI 及びその予備群を選び出すことが可能となりつつある。そのため、迅速かつ安価な CPB-BP2 の測定方法の確立ならびに、MCI 及びその予備群の症状を予防あるいは維持・向上が可能なサプリメントの開発が重要な課題となっている。

本事業においては、CPB-BP2 の測定法として、免疫学的定量解析を試み、その安定性、再現性の確認を行った。また、認知症の評価方法として一般的に行われている長谷川式簡易知能評価スケール（HDS-R 検査）との比較を行い、免疫学的定量解析による CPB-BP2 の測定が、認知症の定量的測定方法として活用できる可能性を見いだした。さらに、漢方薬学的知見から配合した MCI に有用であると推察される植物抽出ドリンクを用いて、33 名のモニターによる予備的試験を行い、良好な結果を得た。

2. 方法

2-1 CPB-BP2 の免疫学的定量解析法の検討

(1) MCI およびその予備軍であることが疑われる 2 名を含む被験者 5 名から、3 ヶ月間に 3 回採血を行った。採血後直ちに血漿および血清分離し、 -85°C で凍結保存した。

(2) 上記 (1) の方法で保存した血漿および血清に対して、CPB-BP2 に対する抗 CPB-BP2 モノクロナル抗体（clone 110）を使用した ELISA アッセイ系を用い、マイクロプレートリーダー（Thermo-Fisher Scientific 社製、Multiskan FC 型）を用い、POD 基質比色定量（OD 450 nm）を行った。

(3) 被験者 5 名に対して HDS-R 検査を行い、測定された CPB-BP2 との比較を行っ

た。

2-2 植物抽出ドリンクによる脳機能改善維持・向上の予備的検討

漢方薬学的知見から配合した MCI に有用であると推察される植物抽出ドリンク（仮称：益智 1 号、容量 50g）の摂取を希望する健常被験者 50 名に対して、HDS-R 検査を行い、その点数が 14～28（満点 30 点）であった 32 名に、益智 1 号を摂取させた。摂取は朝食後および夕食後に各 1 袋（50g）を摂取するものとし、1 ヶ月後に再度 HDS-R 検査を行った。

3. 結果

3-1 CPB-BP2 の免疫学的定量解析法の検討

血清、血漿中の CPB-BP2 の測定結果、および医師による所見ならびに HDS-R 検査を併せて表 1 に示す。CPB-BP2 は 450nm の吸収で表しているが、当該 ELISA 定量解析系のデータ再現性は充分高く、かつ同一被験者の 3 ヶ月間の変動幅は小さいものであった。今回、血清および血漿の両方での測定を行った。測定値は血清においてやや高い値が出る傾向があるが、大きな値の変動ではなかった。また、これらの値は MCI およびその予備軍とされる被験者で高く、HDS-R 検査の値と矛盾することなく相関が得られた。

表 1 CPB-BP2 の免疫学的定量解析法の検討

被験者	性別	年齢	医師所見	検体	採血日	OD (at 450 nm)	OD 平均±標準 偏差	HDS-R
1	男	58	正常	血漿	22 Aug., 2009	0.021	0.029 ± 0.008	30
					8 Nov., 2009	0.037		
					16 Jan. 2010	0.030		
				血清	22 Aug., 2009	0.032	0.037 ± 0.006	
					8 Nov., 2009	0.043		
					16 Jan. 2010	0.037		
2	女	89	MCI/AD	血漿	22 Aug., 2009	0.120	0.109 ± 0.013	19
					8 Nov., 2009	0.112		
					16 Jan. 2010	0.095		

				血清	22 Aug., 2009	0.125	0.128± 0.003		
					8 Nov., 2009	0.128			
					16 Jan. 2010	0.131			
3	男	52	正常	血漿	22 Aug., 2009	0.017	0.016± 0.002	30	
					8 Nov., 2009	0.014			
					16 Jan. 2010	0.018			
				血清	22 Aug., 2009	0.028	0.032± 0.004		
					8 Nov., 2009	0.031			
					16 Jan. 2010	0.036			
4	男	73	正常	血漿	22 Aug., 2009	0.023	0.027± 0.006	27	
					8 Nov., 2009	0.033			
					16 Jan. 2010	0.024			
				血清	22 Aug., 2009	0.028	0.039± 0.012		
					8 Nov., 2009	0.038			
					16 Jan. 2010	0.052			
5	男	85	post-CVA (N)	血漿	22 Aug., 2009	0.042	0.042± 0.006	24	
					8 Nov., 2009	0.037			
					16 Jan. 2010	0.048			
				血清	22 Aug., 2009	0.071	0.062± 0.012		
					8 Nov., 2009	0.048			
					16 Jan. 2010	0.066			

3-2 植物抽出ドリンクによる脳機能改善維持・向上の予備的検討

被験者 51 名の HDS-R 検査結果を図 1 に示す。年齢とともに値が下がる傾向が示された。

このうち、29 点以上を除外した 33 名を益智 1 号の摂取試験対象者とし、摂取試験を行った。摂取期間中の中止・脱落例は 8 名であった。中止理由は、1) 風味が合わないため摂取中止：1 例、2) 便秘傾向となるため摂取中止：1 例、3) 理由不明による摂取中止：2 例であり、アレルギー反応あるいは重篤な副作用等による中止例はなかった。また、被験者との連絡不能を原因とする脱落例が 4 例あった。

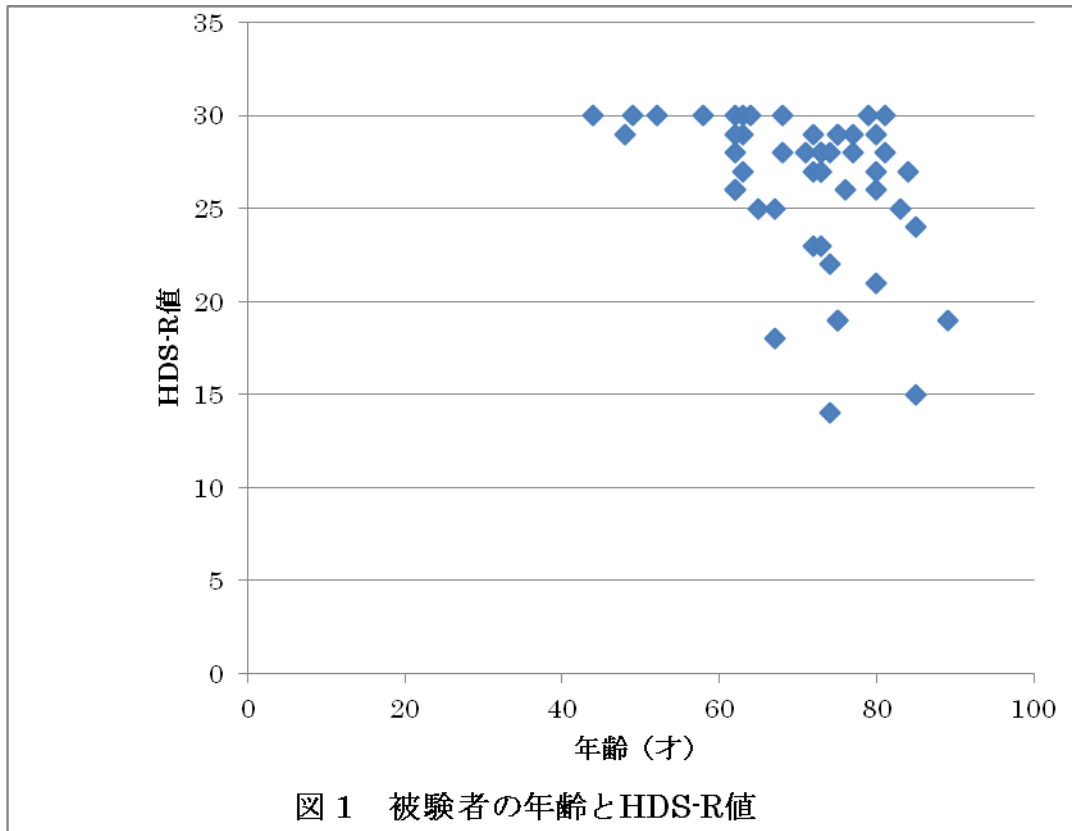


図1 被験者の年齢とHDS-R値

益智1号を摂取し続けた25例のうち、1ヶ月後の判定試験を終えた16例についての結果を図2に示す。全体の平均値が24.4から26.4へ向上した。また、アンケートによる摂取後の自覚症状を図3に示す。また、記憶等以外に視力回復などの自覚症状改善効果の可能性が2例で示唆された。

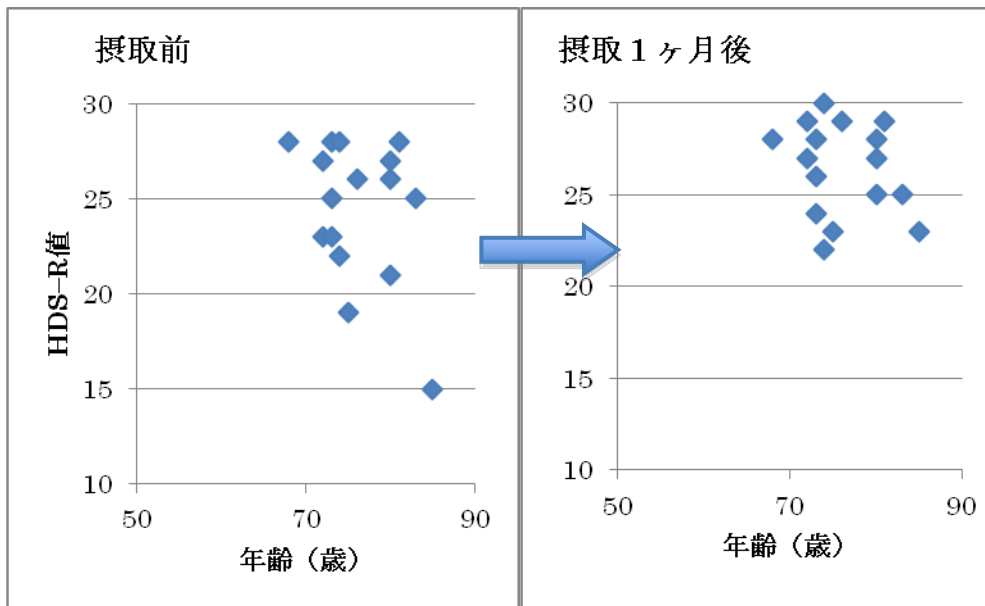


図2 益智1号摂取によるHDS-R値の変化

4. 考察

今回の支援補助金により、MCI およびその予備軍における病体マーカーとして期待される CPB-BP2 を、ELISA アッセイ系を用い、迅速に効率よく測定できることが明らかとなった。検体としては、血清および血漿はいずれも当該解析目的のために使用可能であり、応用範囲が広がるものと考えられる。またこのマーカーが HDS-R 検査ともよく相関することが併せて確認された。これらのことから、ELISA アッセイ系を用いる方法は MCI およびその予備軍の判定には極めて有用であると考えられる。

また、今回使用したサプリメント（益智1号）は、一般健常者を対象としたモニター試験により、MCI およびその予備軍に対しても有用であることが示唆された。今後さらに長期間での摂取試験等が必要であるが、ELISA アッセイ系を用いる CPB-BP2 測定と組み合わせることにより、より効率よく有効な知見が得られるものと期待できる。